

Studio istopatologico del sistema di conduzione cardiaco nella morte improvvisa del lattante e perinatale

GIULIA OTTAVIANI

«Si dimentica forse una donna del suo bambino, così da non commuoversi per il figlio delle sue viscere? Anche se queste donne si dimenticassero, io invece non ti dimenticherò mai» (Isaia 49: 15)

Introduzione

Tra le alterazioni riscontrate post mortem nelle piccole vittime di morte improvvisa del lattante e perinatale sono molto suggestive quelle a carico del sistema di conduzione del cuore (1, 2). Queste ultime, infatti, sommandosi all'ancora disomogenea innervazione cardiaca, possono più facilmente dar luogo ad aritmie maligne, specialmente nel corso di un importante aumento di attività simpatica (1-4).

Scopo di questa ricerca è studiare il sistema di conduzione delle vittime di SIDS e di morte improvvisa perinatale (SPUD: sudden perinatal unexpected death) confrontandolo con i controlli, così da mettere in evidenza tutti i possibili substrati morfologici alla base di aritmie cardiache e in particolare le sue varianti e le franche alterazioni patologiche oggetto di questo studio.

Materiali e Metodi

Un totale di 124 lattanti, 25 neonati e 23 feti entrati nel nostro studio sono stati sottoposti a riscontro diagnostico circa 24 ore dopo il decesso, seguendo il nostro protocollo (5) come previsto dalla Legge nazionale n. 31 del 02/02/06. Per l'esame del sistema nervoso cardiaco periferico è previsto il prelievo del ganglio stellato e del ganglio cervicale superiore, della biforcazione carotidea per l'esame del glomo carotideo e del seno carotideo e dei plessi gangliari e paragangliari mediastinici siti nel tessuto lasso fibroadiposo tra aorta ascendente, arco aortico e biforcazione dell'arteria polmonare (5, 6).

Il cuore, dopo essere stato fissato in toto in formalina tamponata al 10% per circa 10 giorni, è stato campionato ponendo particolare riguardo al sistema di conduzione in modo da garantirne poi istologicamente una sua visione ampia e completa. Il sistema di conduzione, benché abbastanza costante nella disposizione e nella struttura, è soggetto a numerose variazioni individuali, per cui solo l'esame istologico, insieme



alla ricostruzione spaziale tramite sezioni seriate, può fornire i dati necessari sulla topografia e patologia del miocardio specifico (1, 2).

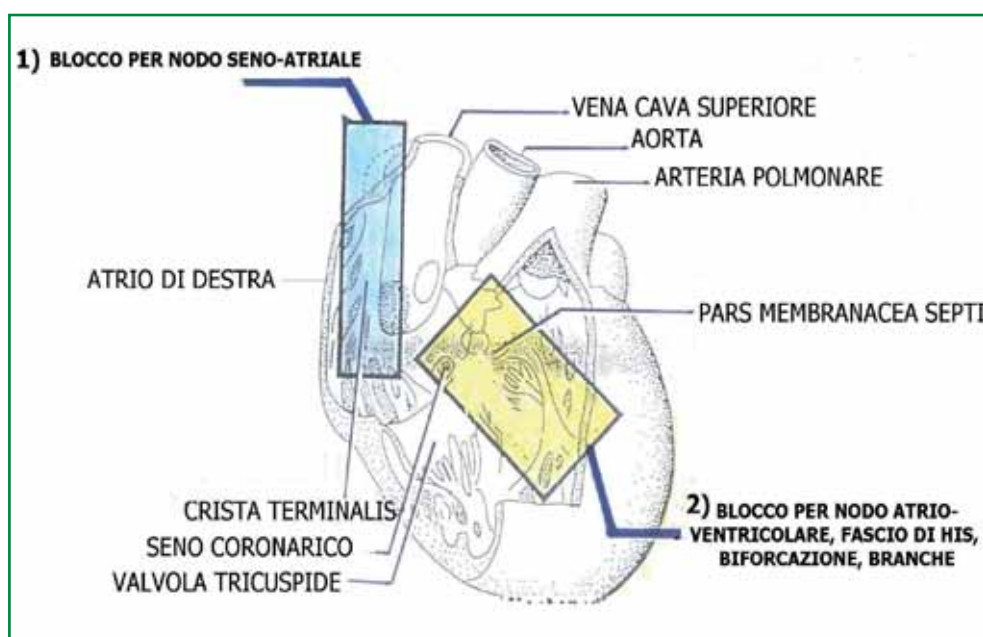
Secondo la metodica del Prof. Lino Rossi (7, 8), sono state osservate le seguenti indicazioni di campionamento cardiaco. Al tavolo anatomico, è stato rimosso il cuore dal cavo pericardico nel modo consueto, ma con attenzione a separare i grossi vasi molto vicino alle riflessioni pericardiche: soprattutto la vena cava superiore è stata tagliata un paio di cm al di sopra del sacco pericardico, affinché fosse possibile esaminare il nodo seno-atriale (NSA) anche quando dislocato in alto, nonché i molti gangli del plesso nervoso seno-atriale che si estende all'avventizia dell'imbuto cavale. Si è proceduto al prelievo di due blocchi di tessuto cardiaco che poi sono stati inclusi in paraffina:

- 1) Primo blocco: contiene il NSA, le sue connessioni atriali, la cresta terminale coi due terzi superiori del tratto internodale posteriore e la parte prossimale dei tratti intermedio e anteriore; il plesso ganglionare sinusale. È stato evitato il taglio usuale tradizionale sul margine laterale del ventricolo destro, tagliando tra vena cava superiore e vena cava inferiore e atrio. Questo taglio, nella maggior parte dei casi, taglia in mezzo il NSA, distruggendo così la parte anatomo-fisiologica più importante del cuore (7). Il principale punto di repere visivo per l'asportazione di questo blocco è centrato sopra il solco-cresta terminale: sono stati eseguiti due tagli longitudinali, paralleli alla linea del solco-cresta, attraverso la parete atriale, proseguendo medialmente sul lato destro a circondare la parete anteriore dell'inserzione della vena cava superiore; a sinistra è stato tagliato molto medialmente il ponte cava-cava, spingendosi fino alla parete della vena cava superiore. Dei due tagli trasversali, il superiore asporta quanto più possibile dell'imbuto cavale, mentre l'inferiore rimuove più o meno distalmente (in base alla massa atriale) il ventaglio dei muscoli pettinati che si irradiano dalla cresta terminale.
- 2) Secondo blocco: contiene il nodo atrio-ventricolare (NAV), il fascio di His (FH) e le branche. Il cuore è stato completamente aperto tagliando sui margini laterali e risparmiando il più possibile il setto atriale e il setto ventricolare. Importante punto di repere è la pars membranacea septi, cioè il setto fibroso. Scoprendo il setto e mettendo il cuore verso una sorgente luminosa sufficientemente forte si è individuata l'area trasparente rappresentata dalla pars membranacea e la si è fissata tra pollice e indice. Si è proceduto quindi a tagliare il setto ventricolare, insieme al corpo fibroso centrale, la parte più bassa del setto atriale e i segmenti adiacenti degli anelli fibrosi atrio ventricolari. Si sono praticate: una sezione inferiore longitudinale, condotta attraverso la parte posteriore del setto e l'anello atrio ventricolare fino al margine superiore dell'ostio del seno coronarico; una sezione anteriore longitudinale, parallela alla precedente, attraverso la parte superiore del setto fino all'anello valvolare aortico; due sezioni perpendicolari alle precedenti, asportando così il blocco di tessuto con il



suo margine superiore (atriale aortico) circa 1,5 cm sopra l'anello atrio-ventricolare e il suo margine inferiore (apice ventricolare) a circondare la base del muscolo papillare tricuspidale mediale e, se possibile, il fascio moderatore o trabecola setto-marginale. Questo secondo blocco, una volta asportato, è stato "rifinito", regolarizzandone il profilo togliendo i lembi valvolari con le corde tendinee, nonché i tratti inutili di parete aortica e del muscolo del cono polmonare, bene al di sopra della pars membranacea (Figura 1) (1, 2, 5).

Figura 1. Campionamento del cuore per lo studio del sistema di conduzione secondo la metodica del Prof. Lino Rossi. A sinistra, il rettangolo nell'atrio destro indica i margini del blocco 1 per l'esame del



nodo seno-atriale lungo il decorso della vena cava superiore. Il rettangolo a destra delimita il blocco 2 per l'esame del nodo atrio-ventricolare, del fascio di His e delle branche; il seno coronario e la pars membranacea septi sono i punti di repere.

Infine, sono stati praticati campioni di miocardio comune dalle pareti libere atriali, ventricolari, dal setto interventricolare, dalla punta. Sono stati prelevati anche campioni di arterie coronarie.

In caso di feti piccoli o neonati prematuri, il prelievo dei due blocchi non viene effettuato, includendo in paraffina il cuore intero. Le strutture del sistema di conduzione in questo caso sono riconoscibili tenendo sempre ben presenti gli stessi punti di repere.

Entrambi i due blocchi di tessuto cardiaco, o il cuore intero in caso di piccoli feti o neonati prematuri, sono stati fissati in formalina tamponata neutra al 10%. Avvenuta

la fissazione, si è proceduti ad un breve lavaggio in acqua corrente per rimuovere la formalina e alla disidratazione del sistema di conduzione tramite un passaggio in etanolo 95 e quattro passaggi in diossano puro, cui segue una parziale impregnazione in una soluzione composta per 1/3 da diossano e per 2/3 da paraffina ed infine una totale impregnazione di paraffina pura. Il primo blocco contenente il NSA è stato incluso con i muscoli pettinati all'opposto della superficie di taglio. Il secondo blocco contenente il NAV è incluso con le valvole semilunari aortiche all'opposto della superficie di taglio. Per l'inclusione in paraffina sono utilizzate particolari forme metalliche. L'inclusione in paraffina del NSA non deve superare le dimensioni di 1.5x3x2 cm, mentre l'inclusione in paraffina del NAV non deve superare le dimensioni di 1x4x3 cm. I blocchi così ottenuti sono stati posti a raffreddare in frigorifero. Ogni inclusione è privata dello strato superficiale della paraffina e modellata nella sua parte superiore in modo da limitare il più possibile la paraffina che circonda il pezzo, al fine di facilitare il taglio al microtomo e la distensione delle sezioni nel bagno stendifette. I due blocchi sono sezionati in serie ad intervalli regolari (livelli) ogni 20-40 μm per il NSA e ogni 40-60 μm per il NAV, raccogliendo 2 sezioni dello spessore di 8 μm per ogni livello. I blocchi sono tagliati fino al loro esaurimento. Le sezioni così ottenute con il taglio al microtomo manuale opportunamente modificato vengono stese nel bagno stendifette ad una temperatura di circa 40-50°C e raccolte su vetrini portaoggetti previamente contrassegnati dal numero del caso, dal livello e dal numero di sezione del livello. Quindi i vetrini sono posti ad asciugare in stufa a 37°C per tutta la notte. Questo tipo di taglio in serie permette, nei limiti del possibile, una ricostruzione spaziale delle strutture che si vogliono studiare. Soltanto l'unione di un campionamento ampio e della seriazione sembrano consentire di superare l'inconveniente della grande variabilità individuale di tali strutture anatomiche. Per ogni caso, sono stati allestiti circa 80 livelli per il NSA e circa 120 per il NAV o circa 100 se si tratta di un unico blocco. Le sezioni sono state colorate alternatamente con ematossilina-eosina e azan. In casi selezionati, è stato effettuato uno studio immunoistochimico dell'apoptosi, utilizzando la metodica TUNEL (TdT-mediated dUTP-digoxigenin Nick end Labeling). L'indice apoptotico è definito come il numero delle cellule apoptotiche diviso per il numero totale di cellule contate, espresso come percentuale (9, 10).

Risultati e Discussione

La morfogenesi postnatale del sistema di conduzione cardiaco rappresenta un'importante parte del suo sviluppo normale. In particolare, il NAV e il FH vanno incontro a una considerevole trasformazione morfologica, definita da James (11) *resorptive degeneration* o degenerazione da riassorbimento, costituita da aree di degenerazione, morte cellulare, infiltrazione di macrofagi e conseguente fibrosi (2, 11). Anche se le stesse alterazioni sono

state osservate anche nei controlli, James ipotizzò che tale rimodellamento del sistema di conduzione potesse essere messo in relazione ad aritmie cardiache o blocchi cardiaci responsabili della morte in culla (11, 12). La teoria di James è stata successivamente confermata da altri autori, mentre Davies et al. (13) insistono sul fatto che non ci sia associazione tra *resorptive degeneration* e morte improvvisa del lattante, essendo la *resorptive degeneration* presente sia nelle SIDS che nei controlli. La *resorptive degeneration* è risultato essere il substrato anatomico più comune nei casi di SIDS e di SPUD, essendo stata riscontrata rispettivamente nel 97% e nel 54,84% dei casi (1, 2, 5) (Tabelle 1, 2). Similmente a James (11), abbiamo osservato *resorptive degeneration* sia nei casi SIDS che nei controlli, ma ciò che sorprende nella nostra casistica è il riscontro di *resorptive degeneration* anche nei feti e neonati, sebbene in minore quantità rispetto ai lattanti.

	SIDS	Controlli
Numero di casi	100	24
Sesso (M/F)	62/38	16/8
Eta media (giorni) \pm SEM	91,90 \pm 9,55	90,8 \pm 15,14
Resorptive degeneration*	97%	75%
Fascio di His settato	33%	16,66%
Fibre di Mahaim	23%	8,33%
Fascio di His spostato a sinistra	20%	8,33%
Isole di tessuto giunzionale nel CF	25%	16,66%
Iper-metaplasia cartilaginea	6%	4,16%
Emorragia	16%	0%
Dispersione del NAV e/o del FH*	67%	16,66%
Ipoplasia del NSA	6%	0%
Duplicità del NAV	3%	0%
Duplicità del fascio di His	3%	4,16%
Ipoplasia del fascio di His	5%	0%
Branca sinistra intramurale	2%	0%
Ispessimento delle arterie nodali	21%	12,5%

Tabella 1. Risultati istopatologici del sistema di conduzione nella SIDS e in lattanti controllo.
SEM = errore standard medio; NAV = nodo atrio-ventricolare; NSA = nodo seno-atriale; CF = corpo fibroso centrale.*= differenza statisticamente significativa, test Chi quadrato, $p < 0.05$.

	Morte improvvisa perinatale	Controlli
Numero di casi	31	19
Sesso (M/F)	17/14	12/7
Resorptive degeneration	54.84%	47.37%
Fascio di His settato	16.13%	15.79%
Fibre di Mahaim	38.71%	10.53%
Fascio di His spostato a sinistra	6.45%	0%
Dispersione del NAV e/o del FH	64.52%	52.63%
Iper-metaplasia cartilaginea	19.35%	21.05%
Emorragia	3.23%	5.26%
Isole di tessuto giunzionale nel CF	64.52%	42.10%
Ipoplasia del NSA	3.23%	0%
Duplicità del NAV	3.23%	0%
Ipoplasia del corpo fibroso	3.23%	0%
Inizio precoce di branca sinistra	6.45%	0%
Branca destra intramurale	6.45%	5.26%
Ispessimento delle arterie nodali	12.90%	0%

Tabella 2. Risultati istopatologici del sistema di conduzione nella morte improvvisa perinatale e in casi controllo. NAV=nodo atrio-ventricolare; NSA= nodo seno-atriale; FH= fascio di His; CF= corpo fibroso centrale.

La dispersione del NAV e/o del FH è stata osservata nel 67% dei casi SIDS e nel 64,52% dei casi SPUD, con differenza statisticamente significativa tra il gruppo SIDS e i controlli (Tabelle 1, 2). Il FH settato, riscontrato nel 33% delle SIDS e nel 16.13% delle SPUD, differisce dal FH disperso per l'interposizione di tessuto fibroso del corpo fibroso centrale nel suo interno anziché per la dispersione di tessuto di conduzione sotto forma di isole nel corpo fibroso. Tale differenza è spesso minima e i casi di NAV e/o FH disperso e/o settato per lo più vengono riuniti in un unico gruppo (2, 5), che, essendo stato riscontrato nei casi di morte improvvisa del lattante e perinatale senza differenze significative, sembrerebbe parte del normale processo di rimodellamento del sistema di conduzione cardiaco, in associazione con il processo di *resorptive degeneration*. La biforcazione settata, invece, è stata riportata come biforcazione anomala; potrebbe essere considerata responsabile di alcuni casi di SIDS, essendo stata descritta nel 13,04% dei casi di SIDS e in nessuno caso controllo (1). Le conseguenze di questa alterazione potrebbero essere un frazionamento della trasmissione dell'impulso, un rallentamento della velocità di conduzione con fenomeni di rientro, aumentato automatismo, aritmie ventricolari e morte improvvisa.

Isole di tessuto di conduzione nel corpo fibroso centrale, designate come “persistente dispersione fetale”, sono state osservate nel 25% dei casi SIDS e nel 16,66% dei controlli, senza una differenza statisticamente significativa con i rispettivi gruppi controllo. È stato proposto da James (12) che queste isole potrebbero essere un substrato anatomico per vie di rientro, dissociazione della conduzione e tachicardie parossistiche. Se tali isole sono separate dal NAV o dal FH ma rimangono attaccate alla cresta del setto interventricolare, il loro contenuto citologico e la loro sede favorirebbero la loro funzione di foci parasistolici con ritmo sia automatico sia provocato, fungendo come foci abnormi di automatismo. Davies et al. (13) e Suárez-Mier et al. (14) hanno postulato che la dispersione fetale e la frammentazione del FH possano essere una normale variazione presente per molti anni nella vita e non dovrebbero essere considerati substrati anatomici per aritmie e morte improvvisa senza anomalie elettrocardiografiche.

Abbiamo osservato fibre di Mahaim nel 23% dei casi SIDS e nell'8,33% dei lattanti controllo (Tabella 1), nel 38,71% dei casi SPUD e nel 10,53% dei relativi controlli (Tabella 2) (Figura 2), senza differenze significative.

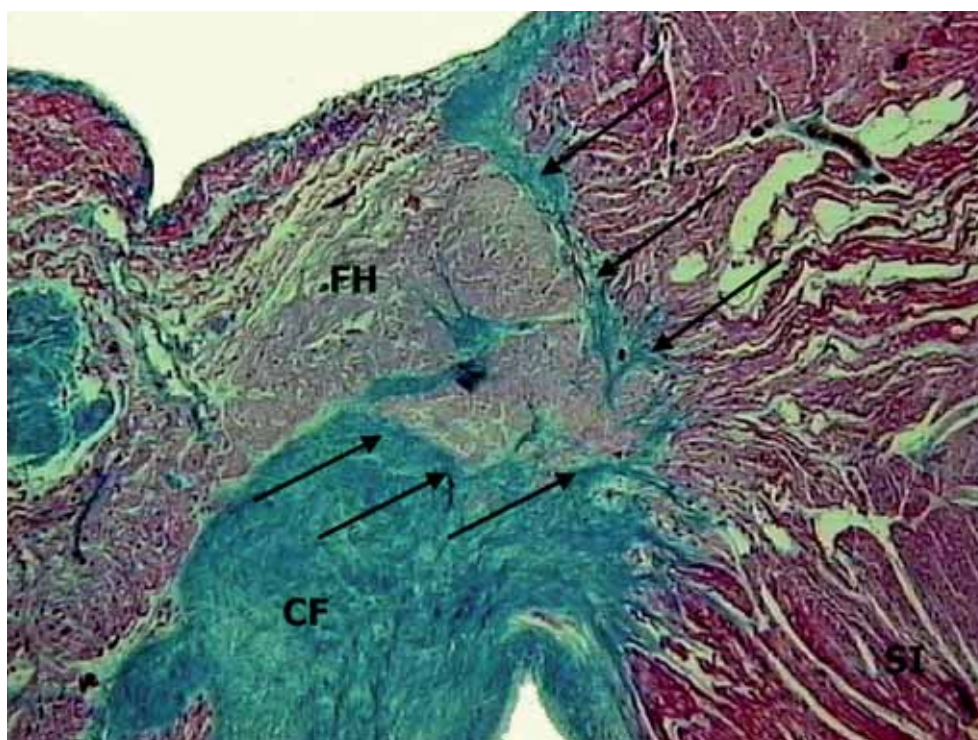


Figura 2. Le frecce indicano una fibra di Mahaim media che mette in comunicazione il Fascio di His (FH) con il setto interventricolare (SI), attraversando il corpo fibroso centrale (CF) in un feto di sesso femminile deceduto inaspettatamente alla 39^a settimana di gestazione.



Le fibre di Mahaim sono vie accessorie già riportate in letteratura in casi di morte improvvisa del lattante. Quando il processo di *resorptive degeneration* viene meno o rallenta, alcune fibre periferiche del sistema di conduzione rimangono connesse al tessuto miocardico comune del setto interventricolare, configurando le cosiddette fibre di Mahaim. Queste fibre, sotto particolari condizioni e/o stimoli neurovegetativi, possono causare aritmie giunzionali potenzialmente maligne (1, 2, 15).

L'iper-metaplasia cartilaginea del centro tendineo è stata riscontrata nel 6% dei nostri casi SIDS e nel 4,16% dei controlli, nel 19,35% dei casi SPUD e nel 21,05% dei controlli perinatali senza differenze statisticamente significative (Tabelle 1, 2). Il corpo fibroso centrale nel cuore umano adulto è una struttura di collagene denso, mentre nel feto e nel lattante è composto da sostanza più soffice e quasi del tutto gelatinosa (9, 16). Dal momento che il NAV giace sul corpo fibroso centrale e il FH vi è posto al suo interno, entrambi, per la loro vicinanza, sono a rischio quando è presente una patologia del corpo fibroso centrale (1, 2). Sembra che un trigono fibroso con iper-metaplasia cartilaginea possa provocare una compressione sul fascio di His e sul sistema di conduzione. I fibroblasti del corpo fibroso centrale sembrano avere natura multipotenziale, sebbene la relazione funzionale di questa alterazione è tuttora ignota. In circostanze normali essi producono collagene denso che è caratteristico dell'annulus mitralico adulto e del setto membranoso interventricolare. Tuttavia ci sono esempi di cartilagine o talora osso presenti nel corpo fibroso centrale qualora i fibroblasti diventino iperattivi fino a creare una trasformazione metaplastica, producendo cartilagine anziché collagene (1, 21, 7).

Emorragia a livello del tessuto di conduzione è stata osservata nel 16% dei casi di SIDS (Tabella 1), nel 3,23% dei casi SPUD e nel 5,26% dei controlli perinatali (Tabella 2). Considerando che molti dei nostri casi di morte improvvisa sono stati sottoposti a manovre rianimatorie d'emergenza, incluso il massaggio cardiaco esterno, è probabile che l'emorragia sia un fenomeno post-mortale. Ematomi del tessuto giunzionale causati da insulto durante le manovre rianimatorie sono già stati riportati in letteratura, sottolineando la pericolosità del massaggio cardiaco esagerato o inaccurato (18, 19).

Il riscontro di branca destra intramurale è considerato una normale variazione di sede della branca (1, 20), mentre la branca sinistra intramurale, osservata nel 20% dei casi SIDS e nell'8,33% dei lattanti di controllo, sembra essere comparativamente più vulnerabile per il suo minore rifornimento nutritivo arterioso (21) (Tabelle 1, 2).

Il FH spostato a sinistra è stato riscontrato nel 20% dei casi SIDS, nell'8,33% dei lattanti di controllo e nel 6,45% dei casi di SPUD. Bharati et al. (22) hanno riscontrato il FH spostato a sinistra significativamente più comunemente nei casi SIDS (53,3%) rispetto ai controlli (25%), proponendo così che questa alterazione possa essere un fattore predisponente per SIDS, mentre Massing e James (23) hanno trovato il FH



localizzato a sinistra nel 62,5% dei cuori umani normali di varie età.

Ipoplasia del NSA è stata osservata nel 6% dei casi SIDS e nel 3,23% dei casi SPUD; ipoplasia del corpo fibroso centrale è stata riscontrata in un caso di SPUD, mentre i casi controllo non presentavano queste alterazioni (Tabelle 1, 2). Tali ipoplasie del NSA e del corpo fibroso sembrano dovute ad un arresto o un difetto di sviluppo del sistema di conduzione, piuttosto che ad un attivo processo degenerativo.

Lo sdoppiamento del NAV e lo sdoppiamento del FH sono stati riscontrati entrambi nel 3% dei nostri casi di SIDS e nel 3,23% dei casi di SPUD (Tabelle 1, 2). Pertanto, se i risultati della nostra casistica, comprendente un limitato numero di controlli, verranno confermati da casistiche più ampie, questa alterazione potrebbe essere considerata responsabile di alcuni casi di SIDS. Lo sdoppiamento del NAV e/o del FH potrebbero rappresentare un importante substrato morfologico di aritmie maligne. Potrebbe, infatti, verificarsi una dissociazione longitudinale della struttura nodale in due distinte vie a diversa velocità di conduzione. Quella più lenta presenterebbe un periodo refrattario effettivo più breve, emergendo soltanto quando si blocca la conduzione nella via rapida, potendo così dar luogo a tachicardia parossistica sopraventricolare rientrante (1-3).

L'iperplasia fibromuscolare delle arterie del NSA e/o del NAV è stata riscontrata nel 21% dei nostri casi di SIDS, nel 12,90% dei casi SPUD e nel 12,5% dei lattanti di controllo (Tabelle 1, 2). Tali ispessimenti aterosclerotici precoci delle arterie nodali del sistema di conduzione sono risultati significativamente correlate al fumo di sigaretta materno e sono quasi sempre accompagnati da ispessimento coronario di vario grado, caratterizzato da ispessimento miointimale con scarsi depositi lipidici, rari monociti e frammentazione delle fibre elastiche (24, 25).

La morte cellulare è una normale componente della morfogenesi perinatale e postnatale del sistema di conduzione e l'apoptosi è il maggiore e possibilmente il principale meccanismo attraverso cui si manifesta. Tuttavia, il fatto che la morte cellulare per apoptosi sia di per sé un processo fisiologico non significa che sia sempre un processo benefico. La sua manifestazione imprevedibile e rapida potrebbe giocare un ruolo nella patogenesi della SIDS, così come nella SPUD. Un deficitario processo di *resorptive degeneration* sembra essere alla base di vie di conduzione accessorie, con relativa possibilità di pre-eccitazione atrio-ventricolare e tachiaritmie da rientro. D'altro canto, una morte cellulare programmata esagerata può provocare disgregazione ed interruzione della via di conduzione stessa, con conseguente blocco atrio-ventricolare (9). Il NSA, sia nei casi SIDS-SPUD che nei casi controllo, presenta un indice apoptotico analogo a quello espresso nel miocardio comune. Nel FH, nella biforcazione e nel tratto iniziale delle branche, l'apoptosi è espressa maggiormente rispetto al miocardio comune. Nel NAV l'apoptosi è stata osservata soprattutto alla periferia, in prossimità del miocardio atriale.

Tale risultato è in accordo con James che descrive che il NAV, durante la morfogenesi postnatale, si riduce di dimensione e il riassorbimento avviene a partire dalla sua periferia (11, 26). In tale sede si localizzano le comunicazioni accessorie di tipo Mahaim, James e Kent, che sarebbero da ascrivere appunto ad una *resorptive degeneration* deficitaria.

Conclusioni

La teoria che la SIDS possa essere correlata ad aritmie cardiache potenzialmente mortali o a blocco cardiaco dovuti ad anomalie strutturali del sistema di conduzione è attraente e di particolare interesse. Poco dati sono invece disponibili in letteratura sui feti e sui neonati morti improvvisamente e inaspettatamente.

I risultati qui presentati indicano un'abbondanza di variazioni fisiologiche e patologiche che sono state trovate in percentuali analoghe nei casi morte improvvisa del lattante e perinatale. Tali reperti anatomopatologici, associati a particolari condizioni e/o stimoli neurovegetativi, sembrano rappresentare i substrati morfologici per aritmie cardiache potenzialmente maligne, particolarmente frequenti con meccanismi tachicardici da rientro nel feto (27).

Dai presenti dati emerge che sia la SIDS che la SPUD configurano un continuum sia sul piano istopatologico che su quello patogenetico, come già confermato da più ampi studi sul tronco cerebrale (28-30). Le importanti alterazioni del sistema di conduzione osservate nella nostra casistica possono configurare, singolarmente o nell'insieme, substrati anatomo-patologici per aritmie maligne e per morte improvvisa su base aritmogena, a sostegno dell'ipotesi cardiaca di un meccanismo aritmogeno dell'exitus. In accordo con James (31), nell'ambito della lunga e spesso cangiante lista di ipotesi relative alla patogenesi della SIDS, la presente teoria relativa alla vulnerabilità del sistema di conduzione, sembra adattarsi a tutte le altre ipotesi come via finale comune.

Bibliografia

1. Matturri L., Ottaviani G., Ramos S.G., Rossi L., Sudden infant death syndrome (SIDS): a study of cardiac conduction system. *Cardiovasc Pathol* 2000; 9: 137-145.
2. Ottaviani G., Matturri L., Rossi L., James T.N., Crib death: further support for the concept of fatal cardiac electrical instability as the final common pathway. *Int J Cardiol* 2003; 92: 17-26.
3. Ottaviani G., Rossi L., Bondurri A., Ramos S.G., Matturri L., Morte improvvisa del lattante: un caso di sdoppiamento del nodo atrio-ventricolare. *Riv Ital Pediatr* 1998; 24: 1165-1167.
4. Ottaviani G., Goisis M., Ramos S.G., Matturri L., Dispersione del tessuto giunzionale e sue conseguenze in un caso di morte improvvisa del lattante. *Cardiologia* 1998; 43: 737-739.

5. Maturri L., Ottaviani G., Lavezzi A.M., Techniques and criteria in pathologic and forensic-medical diagnostics of sudden unexpected infant and perinatal death. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 259-268.
6. Maturri L., Ottaviani G., Benedetti G., Agosta E., Lavezzi A.M., Unexpected perinatal death and sudden infant death syndrome (SIDS): anatomo-pathological and legal aspects. *Am J Forensic Med Pathol* 2005; 26: 155-160.
7. Rossi L., «Salvage the pacemaker» at autopsy. *Am Heart J* 1978; 95: 540-541.
8. Rossi L., Maturri L., Cardiac conduction and nervous system in health disease and sudden death: an anatomoclinical overview. *Osp Maggiore* 1995; 89: 239-257.
9. Maturri L., Ottaviani G., Lavezzi A.M., Turconi P., Cazzullo A., Rossi L., Expression of apoptosis and Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in the cardiac conduction system of crib death (SIDS). *Adv Clin Path* 2001; 5: 79-86.
10. Ottaviani G., Lavezzi A.M., Rossi L., Maturri L., Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) and apoptosis in hyperacute and acute myocardial infarction. *Eur J Histochem* 1999; 43: 7-14.
11. James T.N., Sudden death in babies: new observation in the heart. *Am J Cardiol* 1968; 22: 479-506.
12. James T.N., Marshall T.K., De Subitaneis Mortibus XVIII. Persistent fetal dispersion of the atrioventricular node and His bundle within the central fibrous body. *Circulation* 1976; 6: 1026-1034.
13. Davies M.J., Anderson R.H., Becker A.E., The conduction system of the heart. Butterworths (Ed.), London, 1983.
14. Suárez-Mier P., Gamallo C., Atrioventricular node fetal dispersion and His fragmentation of the cardiac conduction system in sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1885-1890.
15. Guareschi M., Ottaviani G., Ramos S.G., Maturri L., Morte improvvisa del lattante (SIDS): un caso con vie accessorie e resorptive degeneration. *Pathologica* 1998; 90: 294-297.
16. Rossi L. The pathologic basis of cardiac arrhythmias. *Cardiol Clin* 1983; 1: 13-37.
17. Ferris JA, Aherne WA. Cartilage in relation to the conducting tissue of the heart in sudden death. *Lancet* 1971; 1: 64-66.
18. Maturri L., Ottaviani G., Rossi L., External cardiac massage in infants. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1199-1200.
19. Ottaviani G., Rossi L., Maturri L., Myocardial injury attributable to external cardiac massage in infants. *Cardiology* 2005; 1: 25-29.
20. James T.N., Normal variations and pathologic changes in structure of the cardiac conduction system and their functional significance. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 71B-78B.

21. Rossi L., Intramural ramification of the left bundle branch. *Am Heart J* 1978; 96: 271-272.
22. Bharati S., Krongrad E., Lev M., Study of the conduction system in a population of patients with sudden infant death syndrome. *Pediatr Cardiol* 1985; 6: 29-40.
23. Massing G.K., James T.N., Anatomical configuration of the His bundle and bundle branches in the human heart. *Circulation* 1976; 53: 609-621.
24. Maturri L., Ottaviani G., Lavezzi A.M., Rossi L., Early atherosclerotic lesions of the cardiac conduction system arteries in infants. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13: 276-281.
25. Maturri L., Ottaviani G., Lavezzi A.M., Early atherosclerotic lesions in infancy: role of parental cigarette smoking. *Virchows Arch* 2005; 447: 74-80.
26. James T.N., Cardiac conduction system: fetal and postnatal development. *Am J Cardiol* 1970; 25: 213-226.
27. Wren C., Mechanism of fetal tachycardia. *Heart* 1998; 79: 536-539.
28. Ottaviani G., Lavezzi A.M., Rossi L., Maturri L., Sudden unexpected death of a term fetus in a anticardiolipin positive mother. *Am J Perinatol* 2004; 21: 79-83.
29. Maturri L., Ottaviani G., Alfonsi G., Crippa M., Rossi L., Lavezzi A.M., Study of the brainstem, particularly the arcuate nucleus, in sudden infant death syndrome (SIDS) and sudden intrauterine unexplained death (SIUD). *Am J Forensic Med Pathol* 2004; 25: 44-48.
30. Lavezzi A.M., Ottaviani G., Maturri L., Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiol Dis* 2005; 20: 601-607.
31. James T.N., Congenital disorders of cardiac rhythm and conduction. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1993; 4: 702-718.

Dott.ssa Giulia Ottaviani
Istituto di Anatomia Patologica
Università degli Studi di Milano
e-mail: giulia.ottaviani@unimi.it